

## بررسی تنوع ژنتیکی در کلکسیون *Aegilops umbellulata* ایران با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD

Genetic diversity of Iranian *Aegilops umbellulata* collection using RAPD marker

فاطمه پروین درآباد<sup>۱</sup>، محمد جعفر آقایی<sup>۲\*</sup>، رجب چوگان<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

۲- به ترتیب استادیار، دانشیار، موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

Parvin Darabadi F<sup>1</sup>, Jafar Aghaei M<sup>\*2</sup>, Choukan R<sup>2</sup>

1. Msc Student, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Assistant Professor, Associate Professor, Seed and Plant Improvement Institute, Karaj

\* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mjaghaei@spii.ir

(تاریخ دریافت: ۱۲/۱۱/۹۲ - تاریخ پذیرش: ۲۳/۶/۹۳)

### چکیده

گندم قدیمی‌ترین و مهمترین گیاه زراعی دنیا و گسترده‌ترین محصول زراعی در جهان هم از نظر سطح زیر کشت و هم از نظر مصرف می‌باشد. کاهش تنوع ژنتیکی در ارقام زراعی مانع افزایش عملکرد مناسب با افزایش تقاضا و مصرف شده است. بر همین اساس معرفی و شناسایی مواد ژنتیکی مناسب جدید از بین توده‌های بومی و خویشاوندان وحشی گندم ابزاری مناسب در بهبود سازگاری و خصوصیات ارقام در برنامه‌های بهنژادی گندم می‌باشد. در این پژوهش ۴۵ ژنوتیپ از کلکسیون منتخب *Aegilops umbellulata* موجود در بانک ژن گیاهی ملی ایران که از ۸ استان کشور جمع‌آوری شده بودند، به منظور شناسایی و بررسی تنوع ژنتیکی، ساختار ژنتیکی و فاصله ژنتیکی بین جمیت‌ها بر اساس استان‌های محل جمع‌آوری مورد بررسی قرار گرفتند. جهت بررسی تنوع ژنتیکی، از نشانگر RAPD با استفاده از ده آغازگر ۱۰ نوکلوتیدی استفاده شد. حاصل این بررسی ۹۷ باند بود که ۹۷/۹۴ درصد آنها پلی‌مورفیک بودند. میانگین تعداد آلل واقعی ۱/۹۷ و متوسط آلل موثر ۱/۵۳ بود. گستره تنوع ژنتیکی بر اساس شاخص نی، از ۰/۱۴ تا ۰/۲۸ در بین جمیت‌های استانی بود و تنوع ژنتیکی کل ۰/۳۲ بود. شاخص‌های تمایز ژنتیکی بیانگر جربان ژنی نسبتاً آزاد در میان جمیت‌های این گونه و عدم تمایز شدید جمیت‌ها بود. نمونه‌های جمع‌آوری شده از آذربایجان از بیشترین تنوع برخوردار بوده و کمترین فاصله ژنتیکی را با سایر نمونه‌ها داشت. بنابراین آذربایجان به عنوان مرکز تنوع این گونه در ایران پیشنهاد شد.

### واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی  
شاخص نی  
RAPD  
نشانگر  
*Aegilops umbellulata*  
DNA

## مقدمه

خویشاندان وحشی است. از نشانگر مولکولی RAPD برای بررسی تنوع ژنتیکی و روابط میان جمعیت‌ها در بسیاری از گونه‌های گیاهی و از جمله برای بررسی تنوع ژنتیکی و گروه‌بندی ارقام گندم نان (Mortazavian et al. 2005), مطالعه تنوع ژنتیکی ژرم پلاسم، نمونه‌هایی از گندم‌های هگزاپلوئید، تترابلوبloid و دیپلوبloidهای وحشی با ژنوم‌های (AA) و (DD) (Dashti et al. 2009)، بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌های تریتی پایرورم، تریتیکاله و گندم، گندم دورروم و علف شور ساحل (Siahvars et al. 2010)، همچنین برای ارزیابی تنوع در میان جمعیت‌های گیاهان کاکوتی (*Ziziphora tenuior*) (Hatari et al. 2013), Koohgard et al. (*Fritillaria imperialis*) (Rahimi et al. 2011), Fazeli et al. (2012)، گلرنگ (Aghazadeh et al. 2003)، بُرج (al. 2011)، Hajirezayi (Yavari et al. 2012) (*Thymus migricus*) (et al. 2009)، زیره پارسی (Pezhmanmehr et al. 2010) (*Bunium persicum*) (Yousefi et al. 2009)، اگرورپرون بنگ دانه (*Hyoscyamus niger*) (Asghari et al. 2011; Taghizadeh et al. 2011) استفاده شده است و نشان داده که نشانگر RAPD از توانایی بالایی برای تمایز میان جمعیت‌های یک گونه برخوردار است. (Cenkci et al 2008) روابط میان ۲۲ نمونه از گونه‌های مختلف جنس گندم و آژیلوپس را با استفاده از ۱۴ نشانگر RAPD مطالعه کردند. آنها نتیجه گرفتند که این نشانگر می‌تواند برای تمایز میان گونه‌های گندم و آژیلوپس استفاده شود و از پتانسیل تهیه نشانگرهای اختصاصی ژنوم‌های گندمیان برخوردار است. گونه *Aegilops umbellulata* یکی از گونه‌های مهم خویشاندان وحشی گندم است که بارها برای توسعه ژنهای مقاومت به زنگ برگ و زنگ نواری Valkoun et al. 1985; Singh et al 2000; استفاده شده است (Chhuneja et al. 2007, 2008 زراعی مانند مقاومت به بیماری‌ها (Chhuneja et al. 2008) (Gorham 1990; Bálint et al. 2002) تحمل به تنش‌های محیطی (Castilho et al. 1996; Liu et al. 2002) و کیفیت نانوایی (Liu et al. 2002) در ژنوم این گونه گزارش شده است. این گونه گیاهی است یکساله و دیپلوبloid (2n = 2x = 14, UU) از خانواده گندمیان که از خویشاندان نزدیک گندم نان به شمار می‌رود. این گونه در

گندم حاوی مقادیر زیادی مواد غذایی مورد نیاز انسان از قبیل پروتئین، کربوهیدرات، چربی و ویتامین است. ارزش غذایی بالای گندم به ویژه محتواهای کربوهیدرات، آن را به مهمترین منبع غذایی انسان‌ها در سراسر جهان تبدیل کرده است. تقاضای جهانی برای گندم همراه با افزایش جمعیت در حال افزایش است و انتظار می‌رود تا سال ۲۰۵۰ تقاضا برای مصرف گندم و محصولات آن تا ۳۲ درصد افزایش یابد (Weigand 2011) در حالی که نیاز به گندم در سال ۲۰۱۰ در حدود ۶۶۶ میلیون تن بوده است، پیش‌بینی می‌شود که این مقدار تا سال ۲۰۵۰ به بیش از ۸۸۰ میلیون تن برسد (Weigand 2011). این افزایش در عملکرد مستلزم توسعه پایه ژنتیکی ارقام جدید برای پتانسیل عملکرد و سازگاری به تنش‌های زنده و غیرزنده است (Rana et al. 2013). اما دوره‌های متعددی انجام انتخاب در میان ارقام تجاری و لاین‌های پیشرفت اصلاحی منجر به باریک شدن پیش از اندازه پایه ژنتیکی این ارقام شده (Shiva 1992) و بنابراین پس از یک دوره پیشرفت سریع در عملکرد ارقام که با معرفی ارقام پایه کوتاه مکریکی صورت گرفت، افزایش معنی‌داری در عملکرد و توسعه سازگاری ارقام جدید گندم مشاهده نمی‌شود. بنابراین تولید غذای بیشتر، برای تغذیه جمعیت در حال رشد، نیازمند توسعه پایه ژنتیکی لاین‌های اصلاحی و دسترسی به منابع جدید تنوع برای اجزای عملکرد است. این نیاز محققین را قادر می‌سازد تا منابع جدید تنوع ژنتیکی را در میان توده‌های بومی و یا گونه‌های خویشاند گندم جستجو نمایند (Rana et al. 2013). بیشتر گندم‌هایی که در سرتاسر جهان کشت می‌شوند، هگزاپلوبloid بوده و متعلق به گندم نان یعنی *Triticum* می‌باشند (Khodabandeh 1996). تقسیم‌بندی جنس *Triticum* بر اساس تعداد دسته جات کروموزومی آن انجام شده که دارای سه دسته کروموزوم یا سه ژنوم قابل تشخیص A، B و D می‌باشد. بر همین اساس فرمول ژنومی سه گروه پلوبloidی گندم‌های دیپلوبloid، تترابلوبloid و هگزاپلوبloid به ترتیب AA, ABBDD, AABB می‌باشد (Stoskopf 1981). علاوه بر این سه ژنوم، ژنوم‌های پایه‌ای U, C و S نیز در میان گونه‌های وحشی گندمیان یافت می‌شود که با ژنوم‌های گندم نان همیولوگ هستند. بررسی تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسم پیش‌نیاز استفاده از منابع جدید

جدول ۱- لیست آغازگرهای مورد استفاده برای بررسی تنوع ژنتیکی در

#### *Ae. umbellulata* کلکسیون

نام آغازگر	توالی نوکلوتیدهای آغازگر ( $3' \rightarrow 5'$ )
OPC 13	AAG-CCT-CGT-<C>
OPC 15	GAC-GGA-TCA-<G>
OPC 11	AAA-GCT-GCG-<G>
OPC 05	GAT-GAC-CGC-<C>
OPC 01	TTC-GAG-CCA-<G>
OPC 09	CTC-ACC-GTC-<C>
OPB 12	CCT-TGA-CGC-<A>
OPY 05	GGC-TGC-GAC-<A>
OPX 01	CTG-GGC-ACG-<A>
OPA 04	AAT-CGG-GCT-<G>

محلول واکنش در حجم ۲۰ میکرولیتر تهیه شد. دمای اتصال آغازگرها با استفاده از گرادیانت دمایی برای هر آغازگر تعیین شد. چرخه حرارتی مورد استفاده شامل یک مرحله و اسرشته‌سازی ۲۵ دقیقه در دمای  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳ دقیقه، مرحله دوم شامل ۲۵ چرخه هر چرخه شامل و اسرشته‌سازی در دمای  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت یک دقیقه، مرحله اتصال آغازگرها به رشتہ الگو در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  به مدت یک دقیقه، بسط اولیه در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت یک دقیقه و بسط نهایی بعد از اتمام ۳۵ چرخه در دمای  $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه بود. پس از آن نمونه‌ها تا زمان بارگذاری روی ژل در دمای  $-20^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند. فرآورده‌های حاصل از تکثیر جهت تفکیک بر روی ژل آگارز  $0/8$  درصد متقل شدند و رنگ آمیزی ژل با محلول اتیدیوم بروماید  $0/5$  درصد انجام شد. الگوهای نواری بر اساس حضور (۱) و عدم حضور (صفر) امتیازدهی شدند و ماتریس تشابه بر اساس شاخص (Nei 1972) تشکیل شد. شاخص‌های تنوع ژنتیکی درون جمعیتی از قبیل میانگین واقعی آلل‌ها که به معنی تعداد آلل‌های مشاهده شده یک جایگاه در جمعیت است و میانگین موثر آلل‌ها که بیانگر تعداد آلل‌هایی است که انتظار می‌رود در هر جایگاه مشاهده شود (Hartl 1997)، شاخص محتوای اطلاعات چند شکلی PIC، شاخص (Nei 1973) که معیاری برای نشان دادن هتروزیگوستی می‌باشد و شاخص شانون که معیاری برای بیان میزان مشارکت آللی در تفکیک ژنوتیپ‌ها می‌باشد (Shannon 1948)، همچنین شاخص‌های هتروزیگوستی Ht، شاخص‌های همخوئی Fst، Fis و Fit، شاخص‌های تمایز زیر جمعیت‌ها<sup>۱</sup> GST و جریان ژنی

زمین‌های کم آب، خاک‌های سنگلاخ همراه با بستر سنگی شامل سنگ آهک و یا بالاست می‌روید. بافت‌های خاکی ثبت شده برای این گیاه، خاک رس و شن می‌باشد. نمونه‌های این گیاه تا ارتفاع ۱۸۰۰ متری از سطح دریاهای آزاد، یافت شده‌اند (Chittaranjan 2011). در ایران این گونه بیشتر در اقلیم‌های سرد استپی و مدیترانه‌ای خشک و در ارتفاعات ۶۰۰ تا ۲۲۰۰ متر پراکنی دارند (Totiae et al. 2007). میان سایر گونه‌های پلیپلوفیل گندمیان محسوب می‌شود (Kimber and Feldman 1987) غرب ایران گسترش داشته و ایران یکی از مرکز تنوع آن محسوب می‌شود (Totiae et al. 2007). تلاش‌هایی برای تهیه آمفی‌پلوفیل هگزاپلوفیل (AABBUU) نیز با تلاقی میان گونه دیپلوفیل ۲n=4x=28 و گندم دوروم تترابلوفیل (AABB) و دو برابر کردن تعداد کروموزوم‌های نتاج آنها انجام شده است (Orlovskaya et al. 2007). Liu et al. (2002) در بررسی زیر واحدهای گلوتنین با وزن مولکولی بالا (HMW) در ژنوم U از گونه *Ae. umbellulata* دریافتند که زیر واحدهای گلوتنین در این ژنوم بسیار شبیه به زیر واحدهای کد شده ژنوم D هستند. مطالعه حاضر به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی و بررسی وضعیت تمایز زیر جمعیت‌ها در کلکسیون گندم وحشی *Ae. umbellulata* ایرانی که در بانک ژن گیاهی ملی ایران نگهداری می‌شود، انجام شده است.

#### مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۴۵ نمونه ایرانی کلکسیون *Ae. umbellulata* از ۸ استان کشور مورد مطالعه و بررسی قرار گرفتند (جدول ۲). بذور در گلخانه کشت و از برگ‌های جوان برای استخراج DNA استفاده شد. استخراج DNA به روش آزمایشگاه سیمیت انجام شد (Hoisington et al. 1994) و مواد شیمیابی مورد استفاده از شرکت سیناژن تهیه شد. پانزده آغازگر ده نوکلوتیدی برای انجام این آزمایشات تهیه شدند اما ۵ آغازگر چندشکلی در میان توده‌های مورد بررسی نشان ندادند و بنابراین به نتایج ۱۰ آغازگر باقی‌مانده اکتفا شد (جدول ۱).

<sup>۱</sup> Genetic diversity statistics

تنوع ژنتیکی نشان نمی‌دهند. با این حال نمونه‌های جمع‌آوری شده از آذربایجان علاوه بر آنکه از تنوع ژنتیکی بالاتری نسبت به نمونه‌های سایر نواحی کشور برخوردار بودند، بیشترین درصد باندهای چندشکل (۸۴/۴۷) بود، بیشترین تعداد آلل موثر (۱/۴۸) بیشترین اندازه شاخص شانون (۰/۴۴) را نیز در میان نمونه‌های مورد بررسی دارا بودند که بیانگر تنوع بیشتر در نمونه‌های ناحیه آذربایجان نسبت به نمونه‌های جمع‌آوری شده از سایر نقاط کشور می‌باشد. در مقابل شاخص‌های تنوع ژنتیکی در میان نمونه‌های جمع‌آوری شده از استانهای زنجان و لرستان کمتر از سایر نمونه‌ها بود (جدول ۴).

جدول ۲- محل جمع‌آوری نمونه‌های مورد بررسی

محل جمع‌آوری	تعداد نمونه
آذربایجان	۱۱
فارس	۴
همدان	۳
ایلام	۸
کرمانشاه	۷
خوزستان	۶
لرستان	۳
زنجان	۳

جدول ۳- میانگین پارامترهای ژنتیکی بین جمعیتی برای جمعیت‌های مورد بررسی در گونه Ae. *Umbellulata*

شانون (I)	موثر (ne)	ژنتیکی (h)	تعداد آلل مشاهده	ضریب تنوع	شاخص
۰/۴۷۸۸	۰/۳۱۵	۱/۵۲۵۷	۱/۹۷۹۴	۰/۴۷۸۸	میانگین
۰/۱۸۶۱	۰/۱۴۷۳	۰/۳۱۴۱	۰/۱۴۲۸	۰/۱۸۶۱	انحراف معیار

Moradkhani et al. 2012 تنوع ژنتیکی بین ۲۰ نمونه از گونه‌های Ae. *crassa* Ae. *tauschii*) شامل (Ae. *cylindrica* (T. *aestivum*) و گندم زراعی (Ae. *cpeltooides*) از مناطق مختلف ایران را با استفاده از نشانگرهای SSR مورد بررسی قرار دادند. تنوع ژنتیکی بدست آمده بر اساس شاخص Nei (1973) برای گونه T. *aestivum* (شامل ۵ نمونه جمع‌آوری شده از دو استان اصفهان و کرمانشاه) برابر با ۰/۲، برای گونه Ae. *tauschii* (شامل ۵ نمونه جمع‌آوری شده از مناطق لاهیجان، ارمنستان، ترکمنستان و گرگان) برابر ۰/۱۵، برای گونه

(Nm<sup>1</sup>) (Nei 1973) محاسبه شدند و در نهایت جمعیت‌ها بر اساس ماتریس فاصله ژنتیکی نی که بر اساس یک معیار شباهت یا یکنواختی ژنتیکی تعریف می‌شوند، گروه‌بندی شدند. این معیار بر مبنای متوسط هموزیگوستی جایگاه‌ها در جمعیت‌های مختلف می‌باشد و لگاریتم طبیعی آن پارامتری است که برای ژنتوتیپ‌های کاملاً خویشاوند صفر است. تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزارهای POPGEN 1.31 SPSS 16 و انجام شد.

## نتایج و بحث

در مجموع برای ۱۰ آغازگری که در نمونه‌های مورد بررسی تنوع نشان می‌دادند ۹۷ باند در کل جمعیت مشاهده شد که ۹۵ تا از آنها پلی‌مورفیک بود. میانگین تعداد آلل واقعی برای بندها ۱/۹۸ و متوسط تعداد آلل موثر ۱/۵۳ بود. برای همه بندها در کل جمعیت مقدار تنوع ژنتیکی کل برابر ۰/۳۱۵ محاسبه شد (جدول ۳) که نشان دهنده تنوع ژنتیکی قابل توجه در کلکسیون Ae. *umbellulata* ایران می‌باشد. Goryunova et al. (2010) در بررسی تنوع ژنتیکی در گونه Ae. *umbellulata* و سایر گونه‌های آمفی‌پلوئید حامل ژنوم U بیش از ۸۸ درصد پلی‌مورفیسم برای جایگاه‌های RAPD گزارش کردند. آنها تنوع ژنتیکی کل در گونه Ae. *umbellulata* را کمتر از ۲۰ درصد گزارش کردند. این مقدار برای سایر گونه‌های آمفی‌پلوئید حامل ژنوم U حتی از این مقدار هم کمتر بود. Gong et al. (2006) برای مطالعه تغییرات تکاملی در ژنوم آژیلوبیس‌ها نمونه‌های ۲۳ گونه مختلف آژیلوبیس را با استفاده از ۳۱ نشانگر ISSR مورد مطالعه قرار دادند. آنها دریافتند که تغییرات ژنتیکی در ژنوم U نسبت به سایر ژنوم‌ها بسیار کمتر بوده است.

نمونه‌های مورد بررسی از یازده ناحیه مختلف کشور جمع‌آوری شده بودند (جدول ۲) نمونه‌های واقع در هر ناحیه جغرافیایی به عنوان یک زیر جمعیت در نظر گرفته شدند. در میان زیر جمعیت‌ها تنوع ژنتیکی مشاهده شده بر اساس شاخص نی از ۰/۱۴ برای استان لرستان تا ۰/۲۹ برای آذربایجان متفاوت بود (جدول ۴) که نشان می‌دهد زیر جمعیت‌ها تفاوت زیادی از نظر

<sup>1</sup> Gene flow: product of the effective Number of population and proportion of Migrants per generation

استان های مبدأ نمونه ها	تعداد آلل واقعی (na)	تعداد آلل موثر (ne)	تنوع ژنتیکی نی (h)	شاخص شانون (I)
آذربایجان	۱/۸۲ ± ۰/۳۸	۱/۴۸ ± ۰/۳۳	۰/۲۹ ± ۰/۱۷	۰/۴۴ ± ۰/۲۳
فارس	۱/۴۴ ± ۰/۵	۱/۳۴ ± ۰/۳۹	۰/۱۹ ± ۰/۲۲	۰/۲۸ ± ۰/۳۱
همدان	۱/۴۱ ± ۰/۴۹	۱/۳۴ ± ۰/۴۱	۰/۱۹ ± ۰/۲۲	۰/۲۷ ± ۰/۳۲
ایلام	۱/۷۱ ± ۰/۴۶	۱/۴۸ ± ۰/۳۷	۰/۲۸ ± ۰/۱۹	۰/۴۱ ± ۰/۲۸
کرمانشاه	۱/۶۱ ± ۰/۴۹	۱/۴۱ ± ۰/۳۶	۰/۲۴ ± ۰/۲	۰/۳۶ ± ۰/۲۹
خوزستان	۱/۵۷ ± ۰/۵	۱/۳۸ ± ۰/۳۷	۰/۲۲ ± ۰/۲	۰/۳۳ ± ۰/۳
لرستان	۱/۳۲ ± ۰/۴۷	۱/۲۶ ± ۰/۳۹	۰/۱۴ ± ۰/۲۱	۰/۲ ± ۰/۳
زنجان	۱/۳۷ ± ۰/۴۹	۱/۳۴ ± ۰/۴۵	۰/۱۸ ± ۰/۲۳	۰/۲۵ ± ۰/۳۳

ژنتیکی (*Gst*) کوچک و معادل  $0/3$  منجر شده است. با وجود آنکه زیرجمعیت‌ها تفاوت‌های واضحی برای شاخص‌های تنوع ژنتیکی نشان می‌دادند، اما شاخص‌های تمایز ژنتیکی بیانگر وجود تعادل در جمعیت کل و تمایز اندک در میان زیر جمعیت‌ها بودند و بنابراین اگر چه شدت تمایز به حدی نیست که بتوان جمعیت‌های واضحی را در میان نمونه‌های این گونه مشخص کرد اما روند آرام تمایز زیر جمعیت‌ها جریان دارد. منظور کردن نمونه‌های جمع‌آوری شده از استان‌های مختلف به عنوان زیر جمعیت ممکن است معیار دقیقی برای تمایز جمعیت‌ها نباشد و عوامل جدا کننده جمعت‌ها که می‌توانند مانع تلاقی تصادفی در زیر جمعیت‌ها شوند لزوماً در مرز استان‌ها حضور ندارند. بنابراین هنوز ممکن است تمایزاتی در میان جمعیت‌ها صورت گرفته ولی مورد توجه قرار نگرفته باشند.

جدول ۵- پارامترهای شاخص تمایز ژنتیکی در میان زیر جمعیت‌های *Ae. umbellulata* ایران

Nm*	Gst	Fit	Fst	Fis
۱/۱۴۲۴	۰/۳۰۴۴	-۰/۰۵	۰/۲۷۶	-۰/۰۵۱۵

بررسی روابط میان جمعیت‌ها با استفاده از ضریب تشابه ژنتیکی (Nei 1972) در میان جمعیت‌ها نشان داد که بیشترین تشابه ژنتیکی بین استان آذربایجان (غربی) و ایلام با ضریب تشابه  $0/۹۲۸۹$ ، و کمترین تشابه بین استان خوزستان و زنجان با ضریب تشابه  $0/۶۷۸۶$  بود. در مجموع نمونه‌های استان زنجان فاصله

(شامل ۴ نمونه جمع‌آوری شده از استان‌های کرمانشاه، آذربایجان شرقی و چهار محال بختیاری) برابر  $0/۱۷$  و برای گونه *Ae. cylindrica* (شامل ۵ نمونه جمع‌آوری شده از آذربایجان شرقی، اردبیل، گرگان، لرستان و زنجان) برابر  $0/۱۵$  بود. ضریب همخوئی در میان افراد نسبت به جامعه کل (Fit) برابر  $-0/۰۵$  بود (جدول ۵). مقدار این آماره بین ۱- تا یک تغییر کرده و بیانگر وجود تلاقی غیر تصادفی در جامعه است که شرط اصلی برای تعادل ژنتیکی (Wright 1969) در جامعه می‌باشد. کوچک بودن Fit نشان می‌دهد که شرایط درون جامعه برای تمایز آن به زیر جمعیت‌ها مساعد نیست. ضریب همخوئی در میان افراد نسبت به زیر جمعیت (Fis) برابر  $-0/۰۵۱۵$  بود. این شاخص نیز بین ۱- تا یک بوده و بیانگر کاهش در نسبت هتروزیگوستی افراد در اثر تلاقی غیر تصادفی در درون زیر جمعیت‌ها است. مقدار به نسبت بزرگ قدر مطلق این ضریب نشان می‌دهد که دلیلی برای کاهش نسبت هتروزیگوستی مشاهده شده نسبت به هتروزیگوستی مورد انتظار که ممکن است در اثر عدم وجود تلاقی تصادفی و تمایز زیر جمعیت‌ها بروز نماید وجود ندارد. ضریب همخوئی در میان زیر جمعیت‌ها نسبت به جامعه کل (Fst) برابر  $0/۲۷۶$  بود. مقدار این آماره بین صفر تا یک تغییر کرده و بیانگر تمایز ژنتیکی در میان زیر جمعیت‌ها است. این مقدار به نسبت کوچک Fst ناشی از وجود ضریب جریان ژنتیکی ( $=1/۱۴$ ) بزرگی در میان زیر جمعیت‌ها است که به یک ضریب تمایز

ایران گزارش کرده است. Van Slageren (1994) پراکنش این گونه را در ترکیه، نواحی شرقی هلال حاصلخیز، قفقاز در آسیای میانه و غرب ایران گزارش کرده است. Totiae et al. (2007) نمونه‌های این گونه را در غرب ایران از شمال آذربایجان تا جنوب غربی ایران در استان خوزستان جمع‌آوری کرده‌اند. بنابراین دور از انتظار نیست که نمونه‌های جمع‌آوری شده از آذربایجان به مرکز تنوع این گونه نزدیکتر و از سایر جمعیت‌های جمع‌آوری شده این گونه متنوع‌تر باشند.

به طور کلی نتایج بیانگر وجود تنوع ژنتیکی زیاد در نمونه‌های ایرانی گونه *Ae. umbellulata* بوده و نشان می‌دهد که نمونه‌های موجود در کلکسیون به جمعیت‌هایی اصیل و منحصر به فرد تعلق دارند. با توجه به پتانسیل بالایی که برای صفات مهم زراعی مانند مقاومت به بیماری‌ها، تحمل به تنش‌های محیطی و کیفیت نانوایی در ژنوم این گونه گزارش شده است، بررسی بیشتر و دقیق‌تر این کلکسیون می‌تواند پتانسیل آن را در خصوصیات مهم زراعی و سازگاری به محیط‌های مختلف برای کاربرد در برنامه‌های اصلاحی گندم آشکار سازد.

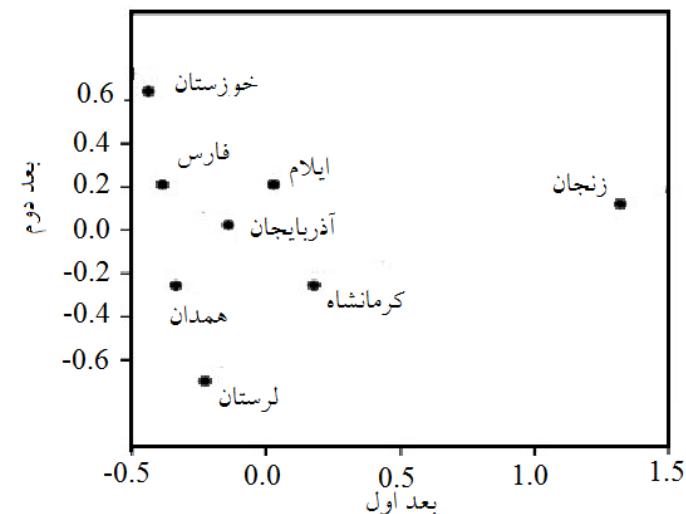
#### سپاسگزاری

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و بانک ژن گیاهی ملی ایران که امکانات اجرایی این تحقیق را فراهم کردن تشکر و قدردانی نمایند.

#### منابع

- Aghazade Gholaki R, Ghareiazi B, Nematzadeh GH A, Babaeian NA (2003) Classification of some Iranian Rice germplasms by Use of RAPD Marker. Iranian Journal of Agricultural Science 34: 757-767 (In Farsi).  
 Asghari A, Jafari AA, Shokrpour M, Mohammaddouste Chamanabad HR (2011) Genetic variation between and within populations of *Agropyron gaertn* using RAPD markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 18: 143-153 (In Farsi).  
 Bálint AF, Kovács G, Sutka J (2002) Copper tolerance of *Aegilops*, *Triticum*, *Secale* and *triticale* seedlings and copper and iron content in their shoots. Acta Biologica Szegediensis 46:77-78.  
 Castilho A, Miller TE, Heslop-Harrison JS (1996) Physical mapping of sub-centromeric and intercalary translocation breakpoints in a set of wheat-*Aegilops umbellulata* lines using *in situ* hybridization. Theoretical and Applied Genetics 93:816-825.

بیشتری از سایر نمونه‌های مورد بررسی را نشان می‌دادند. Kaya et al. 2012 در مطالعه‌ی تنوع ژنتیکی و رابطه بین نمونه‌های *Ae. triuncialis* *Ae. cylindrica* *Ae. geniculata* و *Ae. umbellulata* که از کشور ترکیه جمع‌آوری شده بودند، مشاهده کردند که شباهت ژنتیکی در میان نمونه‌های گونه *Ae. umbellulata* بین ۰/۸ تا ۰/۹۵ بود. از شاخص فاصله (Nei 1972) و روش مقیاس‌بندی چند بعدی برای بررسی موقعیت زیر جمعیت‌ها نسبت به یکدیگر استفاده شد (شکل ۱).



شکل ۱- پراکنش زیر جمعیت‌های گونه *Ae. umbellulata* ایران بر اساس شاخص فاصله نی، با استفاده از روش مقیاس‌بندی چند بعدی

بر اساس این نتایج نمونه‌های جمع‌آوری شده آذربایجان با قرار گرفتن در مرکز پراکنش، در مجموع کمترین فاصله را از سایر زیر جمعیت‌ها دارا بوده و فواصل میان سایر زیر جمعیت‌ها بیشتر از فاصله آنها از نمونه‌های آذربایجان است. نمونه‌های استان زنجان بیشترین فاصله را از سایر زیر جمعیت‌ها دارا بودند. بنابراین با توجه به بالاتر بودن تنوع در نمونه‌های جمع‌آوری شده از آذربایجان تصور می‌شود که مرکز تنوع این گونه در ایران نواحی آذربایجان بوده و سایر زیر جمعیت‌ها از این جمعیت اصلی مشتق شده‌اند. اگرچه همانطور که قبل ذکر شد روند تمایز زیر جمعیت‌ها در این گونه بسیار بطئی بوده و فواصل زیادی در میان زیر جمعیت‌ها مشاهده نمی‌شود. Witcombe (1983) مرکز پراکنش نمونه‌های این گونه را در یونان، سوریه، ترکیه، قفقاز و

- Cenkci S, Tildiz M, Konuk M, Eren Y (2008) RAPD analyses of some wild *Triticum* and *Aegilops* species and wheat cultivars in turkey. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 50:35-42.
- Chhuneja P, Kaur S, Goel R, Aghaee-Sarbarzeh M, Dhaliwal HS (2007) Introgression of leaf rust and stripe rust resistance genes from *aegilops umbellulata* to hexaploid wheat through induced homoeologous pairing. In: Buck HT et al. (Ed.) *Wheat Production in Stressed Environments*, Springer 83-90.
- Chhuneja P, Kaur S, Goel R, Aghaee-Sarbarzeh M, Prashar M, Dhaliwal HS (2008) Transfer of leaf rust and stripe rust resistance from *Aegilops umbellulata* Zhuk to bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genetic Resources and Crop Evolution* 55:849-859.
- Chittaranjan K (2011) *Wild crop relatives: genomic and breeding resources*. Springer, New York.
- Dashti H, Naghavi M, Shahnejat Bushehry AA, Shirani H (2009) Genetic diversity in wheat germplasm using RAPD markers. *Modern Genetics Journal* 4:55-62 (In Farsi).
- Fazeli F, Chafganimra k (2011) Genetic variation in iranian chickpea (*Cicer arietinum* L. Kabuli type) based on agronomic traits and RAPD marker. *Journal of Seed and Plant Improvement* 27:555-579 (In Farsi).
- Gong HY, Liu AH, Wang JB (2006) Genomic evolutionary changes in *Aegilops* allopolyploids revealed by ISSR markers. *Acta Phytotaxonomica Sinica* 44:286-295.
- Gorham J (1990) Salt tolerance in the triticeae: K/Na Discrimination in *Aegilops* species. *Journal of Experimental Botany* 41:615-621.
- Goryunova SV, Chikida NN, Kochieva EZ (2010) RAPD analysis of the intraspecific and interspecific variation and phylogenetic relationships of *Aegilops* L. species with the U genome. *Russian Journal of Genetics* 46:841-854.
- Hajirezayi M, Baghizadeh A, Javadi GH, Sadeghizadeh M (2009) Genetic diversity assessment of a few numbers of pistachio cultivars in Kerman province based on RAPD markers. *Iranian Journal of Biology* 22:462-469 (In Farsi).
- Hartl DL, Clark AG (1997) *Principles of population genetics*. Sinauer associates, Sunderland.
- Hatari Z, Zamani Z, Nazeri V, Tabrizi L (2013) Evaluation of genetic diversity in the medicinal plant Kakooti (*Ziziphora tenuior* L.) using morphological characteristics and RAPD markers. *Modern Genetics Journal* 8:19-28 (In Farsi).
- Hoisington D, Khairallah M, Gonzalez-de-Leon D (1994) Laboratory protocols: CIMMYT applied molecular genetics laboratory, 2nd Ed. D.F. CIMMYT, Mexico.
- Kaya I, Asude CK, Figen YE, Sahin D, Mahinur SA (2011) Genetic diversity and relationship analysis among accessions of *Aegilops* ssp. in Turkey using amplified fragment length polymorphism (AFLP) markers. *African Journal of Biotechnology* 10:16167-16174.
- Kimber G, Feldman M (1987) Wild wheat: an introduction, special report. College of Agriculture. University of Missouri. Columbia USA 353.
- Khodabandeh N (1996) *Grain*. University of Tehran press, Tehran, Iran. (In Farsi)
- Koohgard M, Shiran B, Mirakhori N (2012) Study of genetic diversity between and within populations of *Fritillaria imperialis* in Zagrose regions using RAPD marker. *Modern Genetics Journal* 7:353-362. (In Farsi).
- Liu ZJ, Zhang XM, Wan YF, Liu KF, Wang DW (2002) Characteristics of high-molecular-weight glutenin subunits and their coding genes from *Aegilops umbellulata*. *Acta Botanica Sinica* 44:809-814.
- Moradkhani, H, Aboughadareh AP, Mehrabi AA, Etminan AR (2012) Evaluation of genetic relationships of *Triticum-Aegilops* species possessing D genome in different ploidy levels using microsatellites. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 4:1746-1751.
- Mortazavian SMM, Ramshini H, Naghavi M (2005) Classification of bread wheat cultivars using morphologic data and RAPD markers. 4th Iranian national conference of biotechnology, Tehran, Iran.
- Naghavi MR, Aghaei MJ, Taleei AR, Omidi M, Mozafari J, Hassani ME (2009) Genetic diversity of the D-genome in *T. aestivum* and *Aegilops* species using SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 56: 499-506.
- Nei M (1972) Genetic distance between populations. *American Naturalist* 41: 283-292.
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 70: 3321-3323.
- Orlovskaya OA, Kaminskaya LN, Khotyleva LV (2007) Introgression of *Aegilops* genetic material into the genome of hexaploid triticale. *Russian Journal of Genetics* 43:281-286.
- Pezhmanmehr M, Hassani ME, Fakhre Tabatabaie M, Hadian J (2010) Evaluation of genetic diversity and differentiation of some *bunium persicum* (Boiss) populations using RAPD markers. *Environmental Sciences* 7:63-76. (In Farsi).
- Rahimi M, Marashi H, Farsi M, Ghorbanzadeh M, Rahimi M (2011) Detection of DNA polymorphism of safflower by using of RAPD markers. *Journal of Agricultural knowledge and Sustainable Production* 21:13-22. (In Farsi).
- Rana RM, Bilal M, Rehman SU, Iqbal F, Nawaz Shah MK (2013) Synthetic wheat; a new hope for the hungry world. *Asian Journal of Agriculture and Biology* 1:91-94.
- Shiva V (1992) *The violence of green revolution: Third world agriculture, ecology and politics*. Zed Books.
- Siasar B, Alahdo M, Shahsavand Hassani H (2010) Evaluation of genetic diversity in *Triticopyrum*, *Triticale* and Wheat lines, using RAPD and ISJ markers. *Iranian Journal of Agricultural science* 41:555-568 (In Farsi).
- Stoskopf NC (1981) *Understanding crop production*. Reston publishing company, Inc.
- Taghizadeh R, Jafari AA, Imani AA, Asghari A Choukan R (2011) Investigation of genetic variability in Iranian populations of desert wheat grass (*Agropyron desertorum*) based on morphological and RAPD markers. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* 19:85-100 (In Farsi).
- Totiae AH, Jaffaraghiae M (2007) Collection, Identification and distribution of *Aegilops* species in Iran.

Iranian Journal of Agricultural science 38:99-109 (In Farsi).

Van Slageren MW (1994) Wild wheats: a monograph of *Aegilops* L. and *Amblyopyrum* (Jaub and Spach) Eig (Poaceae). Agricultural University, Wageningen-ICARDA, Aleppo, Syria, 512 pp.

Weigand C (2011) Wheat import projections towards 2050. US Wheat Associates, USA.

Witcombe JR (1983) A guide to the species of *Aegilops* L. their taxonomy, morphology and distribution. Rome: IBPGR Secretariat.

Wright S (1969) Evolution and the genetics of populations: The theory of gene frequencies. University of Chicago Press.

Yavari AR, Nazeri V, Sefidkon F, Zamani Z, Hassani ME (2012) Evaluation of genetic diversity among and within some endemic populations of *Thymus migricus* Klokov & Desj.-Shost using RAPD molecular markers. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 28:35-47 (In Farsi).

Yousefi MJ, Hassani ME, Arefi HM, Mohammadipour M (2009) Evaluation of genetic diversity of several accessions of Iranian *Hyoscyamus niger* L. based on RAPD markers. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 17:1-14 (In Farsi).

Zhang H, Jia J, Gale MD, Devos KM (1998) Relationships between the chromosomes of *Aegilops umbellulata* and wheat. Theoretical and Applied Genetics 96:69-75.